

بررسی اثرات ضد لیستریایی اسانس گیاه چای کوهی (*Stachys Lavandulifolia Vahl*) در پنیر سنتی اردبیل

حسن محمدپور کنزق^۱، مصطفی نوروزی^{۲*}، رزاق محمودی^۳، اصغر محمدپور اصل^۴، رزا زاوشی^۲

^۱ کارشناس ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

^۲ دانشیار علوم تغذیه مرکز تحقیقات رشد کودکان، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

^۳ استادیار بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^۴ استادیار اپیدمیولوژی، گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

* نشانی نویسنده مسئول: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده بهداشت، مصطفی نوروزی

E-mail: mnoroozi@ymail.com

وصول: ۹۳/۸/۸، اصلاح: ۹۳/۱۰/۱، پذیرش: ۹۳/۱۱/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: امروزه اسانس های گیاهی به دلیل دارا بودن خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، جهت استفاده به عنوان نگهدارنده های طبیعی و سالم در مواد غذایی، مورد توجه پژوهشگران صنایع غذایی می باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد لیستریایی اسانس گیاه چای کوهی در پنیر سنتی اردبیل می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی، بخش های هوایی گیاه چای کوهی به صورت خشک شده تهیه و اسانس روغنی آن استخراج و شناسایی شد. غلظت های (۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲) اسانس به همراه 10^2 cfu/ml باکتری لیستریا مونوسیتوژنز به نمونه های شیر پیش ساز پنیر تلقیح شد. نمونه های پنیر به مدت ۶۰ روز در دمای 7°C نگهداری شدند و طی روز های ۱، ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ نحوه رشد باکتری لیستریا و باکتری های کلی هوازی به روش کشت سطحی بررسی شدند. داده ها با آزمون آنالیز واریانس برای داده های تکراری با سطح معنادار کم تر از ۰/۰۵ در SPSS22 آنالیز شد.

یافته ها: غلظت های استفاده شده از اسانس تأثیر معنی داری بر کاهش رشد لگاریتمی باکتری های کلی و لیستریا مونوسیتوژنز نسبت به گروه کنترل داشت ($p < 0/001$). همچنین مشاهده شد که با افزایش غلظت اسانس کاهش رشد لگاریتمی باکتری ها نیز افزایش می یابد. غلظت ۰/۱۲ اسانس بیشترین اثر ضد میکروبی را داشت ($p < 0/001$).

نتیجه گیری: اسانس چای کوهی علیه باکتری های کلی هوازی و لیستریا دارای اثر ضد میکروبی بوده و می توان با کاربرد غلظت ۰/۰۶ اسانس، امنیت و کیفیت میکروبی پنیر های سنتی را ارتقا داده و ویژگی های ارگانولپتیکی مطلوبی نیز ایجاد کرد.

واژه های کلیدی: اسانس، چای کوهی، لیستریا مونوسیتوژنز، پنیر سنتی اردبیل.

مقدمه

عدم ایجاد عوارض سلامتی در مصرف کننده به عنوان

گزینه ای مناسب جهت استفاده به عنوان نگهدارنده های

اسانس ها ی حاصل از گیاهان دارویی به دلیل

سالم و طبیعی در مواد غذایی مطرح هستند (۱). اثرات ضد میکروبی اسانس های گیاهی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها به خصوص باکتری های پاتوژن به اثبات رسیده است (۲، ۳). گیاه چای کوهی با نام علمی *Stachys Lavandulifolia Vachl* یکی از گیاهان دارویی است که خاصیت ضد میکروبی اسانس آن علیه برخی از باکتری ها به خصوص باکتری های گرم مثبت به اثبات رسیده است (۴). گیاه چای کوهی با ارتفاع حدود ۲۵ سانتی متر با ساقه کرکدار و گل های آبی متمایل به بنفش جزو خانواده نعنائیان بوده و در بسیاری از مناطق ایران، ترکیه و عراق به صورت خودرو رشد می یابد (۵، ۶). این گیاه به صورت دم کرده برای درمان بیماری های مختلف در مناطق مختلف ایران مورد استفاده قرار می گیرد (۷).

امروزه مسمومیت ها و بیماری های منتقل شونده از مواد غذایی به عنوان یکی از مشکلات اساسی جوامع بشری به حساب می آید. به طوری که تخمین زده شده است که ۷۰ درصد بیماری های عفونی از طریق مصرف غذای نا سالم به انسان منتقل می شود (۸). یکی از عوامل تهدید کننده سلامت افرادی که از ماده غذایی پنیر استفاده می کنند انتقال بیماری لیستریوز است که با علایمی مانند سبتي سمی، مننژیت، علایم شبه آنفولانزا و سقط جنین در افراد حساس به همراه می باشد (۹). عامل این بیماری باکتری گرم مثبت میله ای شکل داری مکانیسم تنفسی هوازی- بی هوازی اختیاری به نام لیستریا منوسیتوژن است. این باکتری در دمای صفر تا ۴۵ درجه، PH بین ۴/۴ تا ۹/۶، فعالیت آبی ۰/۸۳ و غلظت ۱۰ تا ۱۲/۵ درصد نمک طعام قادر به رشد بوده و می تواند در دمای یخچال نیز تکثیر یابد (۱۰، ۱۱). نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که احتمال انتقال لیستریوز از طریق مصرف لبنیات وجود دارد. به طور مثال در مطالعه ای که توسط رحیمی و همکاران بر روی لبنیات در شهر کرد و شیراز صورت گرفت، مشخص شد که میزان آلودگی پنیر به باکتری لیستریا نسبت به سایر فراورده های لبنی بیشتر است و

۲۴/۴ درصد از نمونه های پنیر سنتی آلوده به این باکتری بودند. در حالی که میزان آلودگی در شیر خام و بستنی سنتی به ترتیب ۱۱/۱ و ۱۳/۳ درصد بود (۱۲). مصرف پنیر نرم و نارس توسط افراد حساس یک فاکتور خطر برای بروز لیستریوز به حساب می آید (۱۳). این باکتری به طور وسیع در طبیعت گسترش دارد و به راحتی می تواند باعث آلودگی مواد غذایی شود. بنابراین، برای پیشگیری از انتقال آن، استفاده از نگهدارنده ها در مواد غذایی امری ضروری به حساب می آید (۱۴). بنابراین، در این مطالعه اثر غلظت های مختلف اسانس گیاه چای کوهی بومی اردبیل را در کاهش رشد باکتری لیستریا منوسیتوژن در پنیر سنتی این استان که از شیر غیر پاستوریزه و به صورت نیمه سخت تهیه می شود، مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش ها

تهیه اسانس گیاه

گیاه چای کوهی را زمان گل دهی از دامنه های کوه سبلان اطراف شهرستان سرعین تهیه نموده، پس از تأیید گونه و نام علمی در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز (شماره هرباریوم ۰۷۸۳)، در شرایط سایه خشک و به طور کامل خرد و آسیاب شد. با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) ساخت شرکت گلدیس ایران، اسانس روغنی گیاه را به روش تقطیر با آب پس از سه ساعت جوش آمدن استخراج نموده و پس از آب گیری، درون شیشه ای تیره در یخچال نگهداری شد (۱۵).

تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه چای کوهی

آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) انجام شد. از دستگاه GC/MS ۶۸۹۰ ساخت شرکت Agilent آمریکا با ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر

و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد با افزایش تدریجی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز حامل هلیوم با سرعت ۱/۵ میلی متر در دقیقه استفاده شد.

شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. در نهایت با استفاده از شاخص بازداری و طیف های جرم اجزای اسانس در مقایسه با طیف مرجع، ترکیبات اسانس شناسایی شد (۱۶).

برآورد میزان تلقیح باکتریایی جهت تلقیح در شیر اوآله پنیر

کشت لیوفیلیزه باکتری لیستریا مونوسیتوزنز که از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز تهیه شده بود، دو مرتبه متوالی در محیط محیط کشت براث بسیار غنی از عضله قلب با نام Brain Heart Infusion Broth ساخت شرکت مرک کشور آلمان به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. به منظور محاسبه میزان باکتری لازم (CFU/ml) جهت تلقیح در شیر، از کشت مرحله دوم و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Pharmacia انگلستان)، در طول موج ۶۰۰ نانومتر و شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی انجام شد (۱۷).

تولید پنیر سستی اردبیل

۴ لیتر شیر خام تازه از دام داری دانشگاه تبریز و در شرایط خنک به آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انتقال داده شد. نمونه های شیر ابتدا از لحاظ آلودگی باکتریایی به لیستریا با استفاده از محیط کشت اختصاصی مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت وجود آلودگی میزان آن تعیین شود. برای هر کدام از غلظت های اسانس (۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲ درصد و گروه کنترل) ۳۰۰ میلی لیتر نمونه شیر جهت تولید پنیر منظور گردید. نمونه شیر درون ظروف استریل تا

دمای ۵۰-۴۵ درجه حرارت داده شد و پس از رساندن دما تا ۳۷ درجه، باکتری لیستریا مونوسیتوزنز با دوز مورد نظر (۱۰^۳ cfu/ml) تلقیح شد. پس از افزودن ۰/۰۳ گرم آنزیم رنت (ساخت شرکت آنزیم های صنعتی ایران) به هر یک از نمونه ها و هم زدن آن ها جهت اختلاط کامل اجزای آزمایش، تیمار های تهیه شده به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرمخانه گزاری شدند. لخته ها پس از تشکیل به قطعات ۱-۲ سانتی متری برش داده شدند و به مدت ۴ ساعت زیر فشار وزنه ای استریل قرار گرفتند؛ تا به طور کامل آب گیری شوند. سپس لخته ها جهت سپری شدن دوره رسیدن درون آب نمک ۱۰ درصد (وزنی-حجمی) قرار داده شده و به مدت ۶۰ روز در دمای ۷ درجه در یخچال نگهداری شدند. نمونه برداری جهت شمارش لیستریا و باکتری های کلی هوازی در روزهای ۱، ۷، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ انجام شد. آزمایش تولید پنیر با غلظت های مختلف اسانس با سه بار تکرار انجام می شود.

کشت و شمارش میکروبی

جهت شمارش کلی میکروب ها و لیستریا مونوسیتوزنز به روش کشت سطحی به ترتیب از محیط کشت آگار غنی از شیر و پژه لیستریا با نام Listeria Selective Agar ساخت شرکت مرک کشور آلمان استفاده شد (۱۸).

ارزیابی حسّی

تأثیر افزودن اسانس چای کوهی بر ویژگی های حسّی پنیر با استفاده از آزمایش قابلیت پذیرش حسّی توسط یک گروه پنج نفری از اعضای دانشکده دامپزشکی تبریز که در این زمینه دارای تجربه بودند، بررسی شد. نمونه های پنیر تولید شده از غلظت های مختلف اسانس و شیر پاستوریزه عاری از باکتری به پنج قسمت مساوی تقسیم شدند. هر یک از افراد ارزیابی خود از ویژگی های مختلف پنیر نظیر ظاهر، رنگ، بو و طعم را بر اساس یک مقیاس نه نمره ای مشخص کردند (۱۹).

تجزیه و تحلیل آماری

از آزمون آنالیز واریانس برای داده های تکراری برای بررسی تغییرات رشد لگاریتمی باکتری ها در طول زمان و از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با تست تعقیبی توکی برای مقایسه نتایج ارزیابی حسی در گروه ها در نرم افزار SPSS 22 استفاده شد و سطح معنی دار کم تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

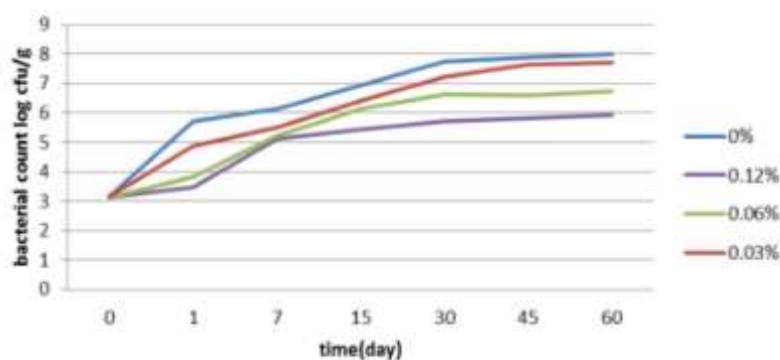
نتایج حاصل از آنالیز شیمیایی اسانس فرار روغنی چای کوهی توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی شامل نوع و درصد تشکیل دهنده اسانس در جدول ۱ مشخص شده است. ۱۶ نوع ترکیب شیمیایی در این اسانس شناسایی شد که ترکیبات Benzene 1-methyl-4-Phenol, γ -Terpinene (1-methyleth) و α -Pinene به ترتیب با ۲۸، ۱۶، ۱۸، ۱۷، ۱۷، ۱۲ درصد بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بودند. نمودار شماره ۱ و ۲ به ترتیب تأثیر اسانس چای کوهی در غلظت های ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۱۲ درصد بر کاهش رشد لگاریتمی لیستریامونوسیتوزنز و باکتری های

کلی هوازی را در طول دوره ۶۰ روزه نگهداری پنبه در دمای ۷ درجه نشان می دهد. همان طور که در نمودار ها مشخص است غلظت های به کار برده شده از اسانس چای کوهی، تعداد شمارش کلی باکتری ها و لیستریا مونوسیتوزنز را نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش داده است ($p < 0/001$). همچنین با افزایش غلظت اسانس رشد باکتری های مورد مطالعه نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافته است ($p < 0/001$).

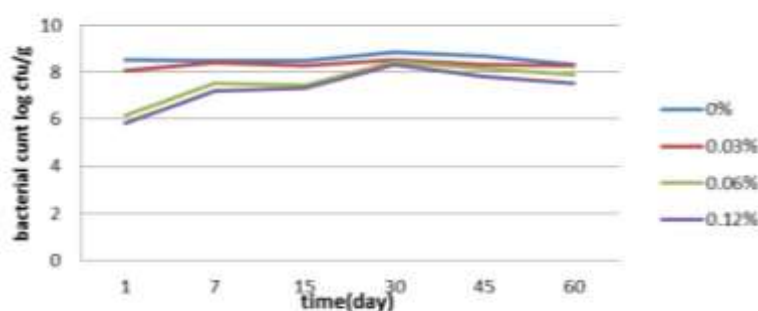
غلظت ۰/۱۲ درصد اسانس چای کوهی در بین غلظت های دیگر بیشترین اثر ضد میکروبی را داشت؛ به طوری که در انتهای ۶۰ روز دوره رسیدن پنبه منجر به کاهش شمارش کلی باکتری ها و لیستریا مونوسیتوزنز به ترتیب به میزان ۷۹/۲ و ۸/۲ لگاریتم نسبت به گروه شاهد شده است. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نشان داد که گروه تیمار شده با غلظت ۰/۱۲ درصد اسانس چای کوهی با سه گروه دیگر (۰/۰۳ درصد، ۰/۰۶ درصد و کنترل) تفاوت معنی دار دارد ($p < 0/05$)؛ ولی سه گروه ۰/۰۳ درصد، ۰/۰۶ درصد و کنترل با یکدیگر تفاوت معنی دار ندارند ($p > 0/05$). به عبارت دیگر غلظت های ۰/۰۳، ۰/۰۶ اسانس تغییرات حسی قابل ملاحظه ای در

جدول ۱: نام و درصد ترکیب های شناسایی شده در اسانس چای کوهی

ترکیب	زمان آشکارسازی (دقیقه)	درصد
α -Thujene	۴/۳۹	۰/۷۳
α -pinene	۴/۵۳	۱۲/۷
β -Pinene	۵/۲۶	۱/۳۰
β -Myrcene	۵/۴۵	۱/۹۹
l-Phellandrene	۵/۷۲	۰/۶۳
α -Terpinene	۵/۹۴	۱/۹۳
Benzene, 1-ethyl-4-(1-methyleth)	۶/۱۰	۱۷/۸۷
Benzene, methyl(1-methylethyl)	۶/۱۷	۱۰/۸۰
γ -Terpinene	۶/۶۹	۲۸
Carvacrol methyl ether	۱۰/۷	۰/۳۹
Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	۱۱/۲۴	۱۸/۱۶
Trans-Caryophyllene	۱۳/۶۴	۲/۸۳
Germacrene-D	۱۴/۹۶	۱/۰۵
Zingiberene	۱۸/۲۸	۰/۶۷
Δ -Cadinene	۱۵/۸۳	۰/۵۱
Cis- α -Bisabolene	۲۰/۱۶	۰/۴۴



نمودار (۱) مقایسه تأثیر سه گروه اسانس چای کوهی با غلظت های ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۱۲/۰ درصد و گروه کنترل بر روی جمعیت نهایی لیستریامونوسیتوزنز در پنیر سستی اردبیل



نمودار (۲) مقایسه تأثیر سه گروه اسانس چای کوهی با غلظت های ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۱۲/۰ درصد و گروه کنترل بر روی جمعیت کلی میکروبی در پنیر سستی اردبیل

کار رفته در این تحقیق (۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۱۲ درصد) نسبت به گروه کنترل تأثیر معنی داری بر کاهش رشد لگاریتمی باکتری لیستریامونوسیتوزنز در پنیر دارد، به طوری که در مقایسه هر سه غلظت با گروه کنترل، تفاوت مشاهده شد. با افزایش غلظت اسانس میزان کاهش رشد لگاریتمی باکتری لیستریا نیز بیشتر می شود به طوری که بیشترین میزان کاهش رشد لگاریتمی در غلظت ۰/۱۲ درصد مشاهده شد. این نتیجه مطابق یافته های احسانی و همکاران مبنی بر استفاده از غلظت های مختلف اسانس های موسیر (*Allium ascalonicum*) و بادیان رومی (*Pimpinella anisum*) علیه باکتری لیستریا مونوسیتوزنز در پنیر سفید آب نمکی است که در مطالعه آن ها نیز کاهش رشد باکتری با غلظت به کار برده شده اسانس رابطه مستقیمی داشت (۲۵). در مطالعه حاضر بیشترین میزان کاهش باکتری لیستریا در نمونه های تیمار شده با غلظت ۰/۱۲ درصد در انتهای دوره ۶۰ روزه

پنیر ایجاد نمی کند و استفاده از غلظت ۰/۰۳ اسانس دارای بیشترین پذیرش حسی بود.

بحث و نتیجه گیری

مطالعات مختلف نشان داده اند که بیشترین میزان آلودگی لبنیات به لیستریا در شیر خام و پنیر نرم بوده است (۲۰). طی مطالعه ای در اسپانیا و آمریکا و سوریه، لیستریا مونوسیتوزنز به ترتیب از ۳/۶، ۷/۵ و ۱۰/۹۶ درصد از نمونه های شیر خام جداسازی شده (۲۱-۲۳). در مطالعه ای دیگر در ترکیه میزان آلودگی پنیر های سفید عرضه شده در بازار به باکتری لیستریا مونوسیتوزنز ۳۳/۱ درصد بود (۲۰). آزمایش های صورت گرفته بر روی اسانس چای کوهی بیانگر قدرت ضد میکروبی بالای این اسانس بر باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمیس، سالمونلا تیفی و اشرشیا اکالای در محیط کشت است (۲۴). مطابق نمودار شماره ۱ غلظت های اسانس به

نگهداری پنیر مشاهده شد، که کاهش تراکم باکتری به میزان $2/8$ لگاریتم نسبت به گروه شاهد بود. ولی، بر خلاف یافته ما، در مطالعه فضل آرا و همکاران طی بررسی اثرات ضد لیستریایی اسانس زیره سبز در پنیر سفید ایرانی طی دوره ۶۰ روزه، در نمونه های تیمار شده با غلظت های $0/02$ و $0/04$ درصد از اسانس به ترتیب پس از مدت ۳۰ و ۱۵ روز باکتری مذکور قابل جداسازی و شناسایی نبود (۲۶). بنابراین، می توان نتیجه گیری کرد که قدرت ضد میکروبی اسانس ها متفاوت بوده و اسانس زیره سبز نسبت به اسانس چای کوهی اثرات ضد لیستریایی قوی تری دارد. یافته های حاصل از مطالعه سنچولی و همکاران هم تأیید کننده این ادعاست. آن ها در مطالعه خود اثرات ضد میکروبی اسانس های نعنا، رزماری و میخک هندی را در مدل آزمایشگاهی علیه باکتری های لیستریا مونوسیتوزنز، اشرشیاکلائی و ویبریو بررسی کردند، از میان اسانس های مورد بررسی، اسانس میخک هندی عملکرد قوی تری داشت و باکتری ها نسبت به آن حساس تر بودند؛ در حالی که باکتری ها نسبت به اسانس رزماری مقاوم تر بودند (۲۷). بیشترین میزان کاهش رشد باکتری لیستریا مونوسیتوزنز در مقایسه با گروه کنترل در روز اول دوره نگهداری صورت گرفت. این نتیجه می تواند به دلیل دسترسی بیشتر ترکیبات اسانس به باکتری در حالت فاز مایع از زمان تلقیح اسانس تا تشکیل لخته باشد؛ ولی، در روز های بعد به دلیل تشکیل لخته و ایجاد حالت جامد میزان این دسترسی کاهش یافته است. همچنین احتمال دارد در زمان آب گیری پنیر مقداری از ترکیبات اسانس طی این فرآیند از دست رفته باشد و باکتری پس از تطبیق با محیط بعد از روز اول با سرعت بیشتری تکثیر یافته است.

تأثیر غلظت های اسانس بر کاهش رشد لگاریتمی باکتری های کلی هوازی نشان می دهد که تمام غلظت های به کار برده شده در مقایسه با گروه کنترل باعث کاهش رشد باکتری های هوازی می شود و با

افزایش غلظت اسانس سرعت کاهش تراکم باکتری های هوازی نیز بیشتر می شود. بیشترین میزان کاهش رشد میکروب های هوازی در غلظت های $0/06$ و $0/12$ درصد تا روز سی ام صورت گرفته است. در مطالعه مروات و همکاران نیز استفاده از اسانس نعنا در غلظت های $1/5-2/5$ میلی لیتر بر کیلوگرم در نمونه های پنیر باعث کاهش جمعیت کلی باکتری های هوازی، پروتئولیتیک و ساکروتروفیک شد (۲۸). اسانس چای کوهی بر باکتری لیستریا مونوسیتوزنز نسبت به باکتری های کلی هوازی اثر ضد میکروبی بیشتری دارد. در مطالعات مشابه دیگر نیز مانند مطالعه سنچولی، گواریس و همکاران اثرات ضد میکروبی اسانس های به کار برده شده از یک گونه گیاهی بر روی باکتری های مختلف متفاوت بود (۲۷، ۲۹).

بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی حسی خواص ارگانولپتیکی پنیر های تیمار شده با غلظت های مختلف اسانس چای کوهی، استفاده از غلظت های $0/03$ و $0/06$ درصد تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل در ارزیابی پذیرش حسی پنیر ایجاد نمی کند. ولی غلظت $0/12$ درصد باعث کاهش خواص ارگانولپتیکی پنیر می شود؛ به طوری که پذیرش حسی این گونه پنیر با نمونه های کنترل متفاوت بود. بنابراین، به منظور ایجاد اثر ضد میکروبی مناسب دارای طعمی مطلوب در پنیر سنتی اردبیل می توان از غلظت $0/06$ اسانس استفاده کرد.

نتایج حاصل از مطالعه ما، مطابق مطالعات اخیر در ارتباط با کاربرد موفقیت آمیز اسانس های گیاهی به عنوان نگهدارنده های طبیعی علیه باکتری های پاتوژن در مواد غذایی است. عبدالله زاده و همکاران اثرات ضد لیستریایی اسانس آویشن را در گوشت ماهی چرخ شده بررسی کردند. در این مطالعه اسانس نعنا در غلظت های $0/8$ و $1/2$ درصد منجر به کاهش جمعیت لیستریا به زیر ۲ لگاریتم طی مدت ۶ روز شده بود. همچنین استفاده از غلظت های $0/8$ و $1/2$ درصد اسانس به همراه $1000-500$ واحد نیسین اثر ضد لیستریایی را افزایش داده به

طوری که جمعیت باکتری ظرف مدت ۲ روز به زیر ۲ لگاریتم کاهش یافت (۳۰).

محمدی و همکاران در مطالعه ای اثرات ضد میکروبی سایر اسانس های گیاهی از جمله اسانس گیاه آویشن شیرازی را در غلظت های ۱۰۰، ۱۵۰ و ppm ۲۰۰ علیه باکتری اشیریشیا اکلاهی در پنیر سفید آب نمکی بررسی کردند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اثر اسانس آویشن شیرازی بر روی باکتری اشیریشیا اکلاهی از الگوی وابسته به دوز تبعیت می کند و بیشترین میزان ممانعت کنندگی در غلظت ppm ۲۰۰ رخ می دهد.

بررسی حسّی پنیرهای تولید شده با غلظت های مورد نظر نشان داد که استفاده از این غلظت ها تا غلظت ppm ۱۵۰ مورد قبول می باشد (۳۱).

محمودی و همکاران در مطالعه ای غلظت های مختلف اسانس پونه کوهی به همراه باکتری های لاکتوباسیلوس کازئی را در کنترل رشد باکتری استافیلوکوکوس در پنیر سفید ایرانی بررسی کردند. بر اساس یافته های آن ها اسانس پونه کوهی در دو غلظت ۰/۱۵ و ۰/۰۳ درصد در تیمار توام با پروبیوتیک از بالاترین تأثیر بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس برخوردار بود؛ به طوری که میزان کاهش آن در انتهای دوره نگهداری در تیمار های فوق به ترتیب ۱/۸۹ و ۲/۳۲ لگاریتم بیش از گروه کنترل بود. در این مطالعه غلظت ۰/۱۵ درصد اسانس به عنوان مناسب ترین غلظت به منظور ایجاد ویژگی های ضد میکروبی و اثرات حسّی مطلوب معرفی شد (۳۲).

مکانیسم اثر اسانس ها عمدتاً به دلیل تأثیر آن بر دیواره سلولی میکروب ها می باشد که موجب افزایش نفوذپذیری و مرگ سلول می شود (۳۳). بنابراین، فعالیت ضد میکروبی اسانس را می توان به ترکیبات اصلی اسانس (گاماترپنین، فنول، بنزن و آلفاپینن) نسبت داد. در مطالعه موری و همکاران نیز آلفاپینن به عنوان ماده مؤثر ضد میکروبی اسانس برگ های کاج علیه باکتری

لیستریامونوسیتوژنز شناخته شد (۳۴).

بررسی مطالعات مختلف در این زمینه بیانگر آن است که اسانس های گیاهی دارای اثرات بالقوه ای جهت استفاده به عنوان نگهدارنده های طبیعی در مقابل باکتری های عامل فساد و بیماری زا در مواد غذایی هستند. نتایج این تحقیق نیز نشان داد که اسانس چای کوهی دارای اثر ضد میکروبی بوده و با افزودن غلظت های مختلف این اسانس در شیر اولیه جهت تولید پنیر سنتی اردبیل می توان تراکم نهایی میکروب های کلی هوازی را کاهش داده و کیفیت میکروبی و ایمنی این گونه پنیرها را افزایش داد. همچنین از این اسانس می توان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی سالم جهت پیشگیری از رشد وانتقال باکتری پاتوژن لیستریامونوسیتوژنز استفاده کرد. در این مطالعه غلظت ۰/۰۶ درصد اسانس به عنوان مناسب ترین غلظت به منظور ایجاد اثرات ضد میکروبی مطلوب به همراه کیفیت ارگانولپتیکی قابل قبول در پنیر سنتی اردبیل تعیین شد. توصیه می شود تحقیقات بیشتری در این زمینه به خصوص در ارتباط با ارزیابی اثرات ضد میکروبی اسانس چای کوهی بر باکتری های پاتوژن دیگر به تنهایی و توأم با اسانس های دیگر انجام شود.

تشکر و تقدیر

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته بهداشت و ایمنی مواد غذایی مصوب شورای پژوهشی دانشکده بهداشت مصوب دانشگاه علوم پزشکی قزوین (به شماره ۴۴/۲۱۵۶۶/د ۱۳۹۲/۱۲/۱۹) می باشد که در دانشگاه تبریز انجام شد. بدین وسیله از مرکز تحقیقات رشد کودکان و از آقای مهندس محمدرضا اسدی نداری مسؤول محترم آزمایشگاه میکروب شناسی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز که در اجرای این تحقیق همکاری صمیمانه داشتند، تشکر می نمایم.

References

1. Bozin B, Mimica-Dukic N, Simin N, Anackov G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. J Agric Food Chem. 2006; 54(8): 1822-8.
2. Saeedi S, Mazaheri Naeeni M, Sabbagh SK, Bazi S. Evaluation of antibacterial effects of Aqueous extracts of *Achillea millefolium* and *Teucrium polium* plants on ten human pathogenic bacteria. J Sabzevar Univ Med Sci. 2014; 21(4): 596-603. [Persian]
3. Shafaqiasl K, Nooeizadeh E, Qasemi KG, Maloofi N. Comparison of Cinnamon and Turmeric aqueous and alcoholic extracts on *Helicobacter Pylori* in vitro. J Sabzevar Univ Med Sci. 2005;12(3):17-21. [Persian]
4. Semnani SM, Mahdavi MR, Rahimi F. Antimicrobial effects of methanolic extracts of some spices of *Stachys* and *Phlomis*. J Mazandaran Univ Med Sci. 2007; 17(57): 57-66. [Persian]
5. Mabberley DJ. A portable dictionary of plants, their classifications, and uses. England: Cambridge University. 2008.
6. Ghahreman A. Plant systematics: cormophytes of Iran. Iran: Tehran University: 1994. [Persian]
7. Zargari A. Iranian Medicinal plants. Iran: Tehran unincercity : 1982. [Persian]
8. Pilling V, Brannon L. Food safety training requirements and food handlers khnowledge and behaviors. food Protection Trends. 2008; 28(4): 192-200.
9. Adams MR, Moss M. Bacterial Agents of Foodborne Illness. London: CRS Press: 2002.
10. Duche O, Tremoulet F, Glaser P, Labadie J. Salt stress proteins induced in *Listeria monocytogenes*. Appl Environ Microbiol. 2002; 68(4): 1491-8.
11. Razavilar V, Genigeorgis C. Prediction of *Listeria* spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in a model broth. International Journal of Food Microbiology. 1998; 40(3):149-57.
12. Rahimi E, Behzadnia A, Shakerian A, Momtaz H. Frequency of *Listeria* species from raw milk, traditional cheese and ice-cream in Shahrekord and Shiraz. Microbial World. 2010; 2(4): 243-8. [Persian]
13. Marth EH, Steele JL. Applied Dairy Microbiology. New York: Marcel Dekker. 2001: 547-85.
14. Blacburn C, Peter J. Foodborne Pathogens, Hazard, risk analyses and control. United States: CRC Press: 2002.
15. Commission EP. European Pharmacopoeia: Supplement: Council of Europe; 2001.
16. Zargari A. Handbook of Medical Plants. Iran: Tehran University: 1997. [Persian]
17. Moosavy MH, Basti AA, Misaghi A, Karim G, Zahraie Salehi T, Mostafavi E. Effect of Nisin on the Growth of *Staphylococcus aureus* in Commercial Barley Soup. Pharm Sci. 2009; 15(3): 235-40. [Persian]
18. Bergdoll M, Wong A. Foodborne infections and intoxications. United states: Academic Press: 2006.
19. Meilgaard MC, Civille GV, Carr BT. Sensory evaluation techniques. florida: Crc press: 1991.
20. Arslan S, Özdemir F. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in homemade white cheese. Food Control. 2008; 19(4): 360-3.
21. Al-Mariri A, Abouyounes A, Ramadan L. Prevalence of *Listeria* spp. in raw milk in Syria. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 20013; 16(2): 112-22.
22. Gaya P, Sanchez J, Medina M, Nun˜ez M. Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in raw milk produced in Spain. Food Microbiol. 198;15:551-5.
23. Abou-Eleinin AA, Ryser ET, Donnelly CW. Incidence and seasonal variation of *Listeria* species in bulk tank goat's milk. J Food Prote. 2000; 63(9):1208-13.
24. Amiri H, Roustaeian A, Lari Yazdi H, Haghir Chehregani A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Stachys Lavandulifolia*. Iranian Journal of Sci J Islamic Azad Univ. 2009; 18(70): 43-50. [Persian]
25. Ehsani A, Mahmoudi R, Zare P, Hasany A. Biochemical Properties And Antimicribial Effects Of *Allium Ascalonicium* And *Pimpinella Anisum* essential Oils Against *Listeria Monocytogenes* In White Brand Cheese. Journal of Food Research. 2011; 21(3): 317-28. [Persian]
26. Fazlara A, Sadeghi E, Rostami Soliemani P. Study on the antibacterial effect of *Cuminum* essential oil on *Listeria monocytogenes* in Iranian white cheese. Iranian Journal of Food Scince and Technology. 2012; 9(35): 53-44. [Persian]
27. Sanchouli N, Ghaffari M, gharayi A. Anti bacterial effect of several plants essential oil agenst *Vibrio alginolyticus*, *Escherchia coli* and *Listeria monocytogenes*. Journal oF Comparisinal Patobiology. 2012; 9(3): 749-54. [Persian]

28. Mervat I, Foda M, El-Sayed M, Marwa M, El-Moghazy A, Hassan A. Antimicrobial Activity of Dried Spearmint and Its Extracts for Use as White Cheese Preservatives. *Alex J Fd Sci & Technol*. 2009; 6(1): 39-48.
29. Govaris A, Botsoglou E, Sergelidis D, Chatzopoulou PS. Antibacterial activity of oregano and thyme essential oils against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in feta cheese packaged under modified atmosphere. *Food Sci Technol*. 2011; 44(4): 1240-4.
30. Abdollahzadeh E, Rezaei M, Hosseini H. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*. 2014; 35(1): 177-83.
31. Mohammadi K, Giti K, Hanifian S, Tarinejad A, Ghasemnezhad R. Antimicrobial effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on *Escherichia coli* O157:H7 during manufacture and ripening of white brined cheese. *Journal of Food hygieniene*. 2012; 1(2): 69-78. [Persian]
32. Mahmoudi R, Ehsani A, Tajik H, Akhonzade Basti A, Khosrowshahi A. Antimicrobial effects of *Mentha Longifolia* Essential oil and *Lacto bacillus casei* against *Staphylococcus aureus* in Iranian White Cheese. *Food Research*. 2010; 20 (1): 147-61. [Persian]
33. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *Int J Food Microbiol*. 2004; 94(3): 223-53.
34. Mourey A, Canillac N. Anti- *Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. *Food Control*. 2002; 13(4): 289-92.

Study of Anti-Listeria Effects of *Stachys Lavandulifolia* Vachl Essential Oil in Ardabil Traditional Cheese

Hassan Mohammadpoor Kanzaq,

MSc of Health and Food Safety, School of Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

***Mostafa Noroozi,**

Associate Professor of Nutrition, Department of Nutrition, School of Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Razzaq Mahmoudi,

Assistance Professor of Food Hygiene, Department of Food Hygiene and Aquatics, School of Veterinary Medicine, Tabriz University, Tabriz, Iran

Asghar Mohammadpoorasl,

Assistance Professor of Epidemiology, Department of Nutrition, School of Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Roza Zavoshi,

Associate Professor of Nutrition, Department of Nutrition, School of Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Received:30/10/2014, Revised:22/12/2014, Accepted:09/02/2015

Correspond Author:

Mostafa Noroozi,
Qazvin, Qazvin University of
Medical Sciences,
E-mail: mnoroozi@ymail.com

Abstract

Background & Objectives: Nowadays, plant essential oils are of interest to food industry researchers and are used as natural and safe preservatives in food materials because of their antibacterial and antioxidant properties. The aim of this study was to evaluation of antibacterial activity of *Stachys lavandulifolia* essential oil against *Listeria monocytogenes* growth in Ardabil traditional cheese.

Materials & Methods: In this experimental study, aerial parts of *Stachys lavandulifolia* preparation as dried plant and its essential oil was isolation and identification. Essential oil in 0.03- 0.06 and 0.12 concentration with 10^3 cfu/ml *Listeria monocytogenes* was inoculated in the milk samples that were prepared for the production of cheese. The cheese samples were stored for 60 day at 7 °C and during 1, 7, 15, 30, 45 and 60 days were counted in surface culture to examine the quality growth of *Listeria* and total aerobic bacteria. The data were analyzed with Repeated measurement ANOVA with SPSS 22 and P-values less than 0.05 were considered significant.

Results: Use of essential oil concentrations have significant effect on reducing total bacteria and *Listeria* growth in compared to the control groups ($p<0.001$). Moreover, it was observed that bacterial growth declined logarithmically with increases in the concentration of the essential oil ($p<0.001$). Use of 0.12 concentration of essential oil has the greatest antimicrobial effect.

Conclusion: Essential oil of *Stachys lavandulifolia* has antibacterial effect on *Listeria monocytogenes* and total aerobic bacteria, so that use of 0.06 of essential oil can improve the microbiological and safety properties of Ardabil traditional cheese and, also, can make desirable organoleptic characteristics.

Keywords: Essential oil, *Stachys lavandulifolia*, *Listeria monocytogenes*, Ardabil traditional cheese.